

鸡疟原虫孢子体超微结构的观察

徐麟鹤

(上海第一医学院基础医学部寄生虫学教研室 上海)

Philippe Rossignol

(美国哈佛大学热带公共卫生系)

摘 要

埃及伊蚊感染鸡疟原虫 (*Plasmodium gallinaceum*) 18天后解剖, 电镜下观察唾液腺内孢子体的形态。孢子体长 $7\mu\text{m}$ 、宽 $0.8\mu\text{m}$, 复合膜由一层外膜、二层内膜及膜下微管组成。发达的膜下微管与孢子体重要的运动功能有关。细胞核约位于正中。胞质较均一, 有时有空泡存在, 胞质中有散在核糖体, 未观察到内质网。孢子体有胞口。发达的棒状体及众多的微线体, 可能与孢子体需侵入媒介唾液腺细胞、尔后再侵入鸟类宿主中胚层细胞有关。因而, 任何作用于棒状体、微线体并导致其结构及功能变化的药物, 都将影响甚至阻断孢子体对宿主细胞的入侵, 这就为疟疾的药物预防提供重要理论依据。

关键词 鸡疟原虫 孢子体 超微结构 棒状体 微线体

鸡疟原虫 (*P. gallinaceum*) 是实验室常用的动物疟原虫之一, 对其孢子体超微结构的研究, 国内还未见报道。为了全面阐述疟原虫的超微结构, 阐明孢子体侵入宿主细胞机制, 研究疟原虫致病作用, 为病理性预防寻找理论依据, 特对鸡疟原虫孢子体的超微结构进行观察。

材 料 与 方 法

对实验室饲养的埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*), 感染鸡疟原虫后第18天, 进行蚊体解剖, 取出唾液腺, 以pH7.3—7.4的磷酸缓冲液配制的1.25%戊二醛, 在室温下固定1小时, 再用1%锇酸后固定1小时, 1%醋酸铀染色, 乙醇系列脱水, 浸透, 用Spurr氏低粘稠度包埋剂包埋。超薄切片用醋酸铀、柠檬酸铅染色。最后用Philips 300电镜观察。

本文1983年3月18日收到, 1984年7月6日收到修改稿。

观察结果

鸡疟原虫孢子体呈长梭形, 直或略弯曲(图1), 长约 $7\mu\text{m}$, 宽约 $0.8\mu\text{m}$ 。孢子体外有复合膜包绕。复合膜由一层外膜、二层内膜(图2)及膜下微管组成。外膜及内膜厚约 33nm 。内膜下有膜下微管(图3)在孢子体的横切面上, 膜下微管更是清楚可见(图4)。膜下微管直径为 26nm 。

孢子体有一对电子致密的棒状体(图5), 从顶端起直达虫体中部, 其长度占虫体的二分之一或更长。棒状体宽度不一, 有一棒状体宽达 $0.39\mu\text{m}$ (图6)。在棒状体周围有大量微线体, 电子致密、圆形、椭圆形或条杆状(图5, 6)。

细胞核约位于正中。核质均匀。未见双膜结构的核膜存在。

孢子体侧面有胞口结构。该处复合膜内凹, 内凹的深度为 33nm , 宽度为 40nm , 内凹部位的细胞膜电子致密(图7)。

孢子体的胞质均一, 有空泡存在, 在空泡中有时可发现“斑点钮扣样”结构, 大小为 $0.26\times 0.36\mu\text{m}$, 边缘清楚(图8)。胞质内有散在核糖体, 未观察到内质网。

在唾液腺的角质微管及腺腔内, 都发现大量孢子体(图9, 图10)。

讨论

据 Aikawa (1980) 描述, 疟原虫孢子体长约 $11\mu\text{m}$, 宽约 $1.0\mu\text{m}$ 。这是伯氏疟原虫孢子体的长度。Garnham (1960) 等研究了鸡疟原虫孢子体的超微结构。他认为, 鸡疟原虫孢子体长约 $9\mu\text{m}$ 。据我们的材料, 鸡疟原虫孢子体长约 $7\mu\text{m}$, 宽约 $0.8\mu\text{m}$ 。宽度与文献记载相符, 但长度则稍有差别。Garnham (1960) 提到, 由于孢子体稍弯曲而较长, 在一个切片中, 往往祇能观察到部份孢子体, 而不是其全部。我们在切片中观察到完整的孢子体(图1)。因此, 鸡疟原虫孢子体长约为 $7\sim 9\mu\text{m}$, 可能更接近客观事实。

孢子体的复合膜由外膜、内膜及膜下微管组成。在不同种疟原虫, 膜下微管的数量不一。大部份膜下微管排列在胞质周围的三分之二侧, 另有一膜下微管排列在余下的三分之一侧。伯氏疟原虫膜下微管的排列为 $15-16+1$, 卵形疟原虫则为 $12+1$ (Aikawa *et al.*, 1980), Garnham 最早记载鸡疟原虫膜下微管的排列为 $11+1$ 。孢子体所具有的发达的膜下微管, 乃是与其重要的运动功能有关。孢子体需侵入蚊体唾液腺, 并再侵入鸟类宿主细胞内寄生。

我们所观察到的胞口结构, 复合膜内凹明显, 内凹部位细胞膜电子致密, 其结构与裂殖子胞口类似。胞质内有时出现“斑点钮扣样”结构。根据在电镜下所观察到的这一结构对钨酸的反应, 我们同意 Garnham 的意见, 认为可能是类脂一类物质。

孢子体具有极为发达的棒状体, 其长度往往达到虫体的二分之一; 棒状体的宽度, 根据我们的观察, 有的达到 $0.39\mu\text{m}$ 。棒状体周围还有众多微线体。红内期疟原虫的裂殖子, 亦具有棒状体及微线体。目前认为, 微线体分泌某些化学物质, 它们可能通过孔状结构进入棒状体, 再经总管排出, 促使红内期的裂殖子侵入红细胞(徐麟鹤等, 1982)。

Kilejian (1976) 在疟原虫 (*P. lophurae*) 所发现的组氨酸蛋白, 很可能是这样一种化学物质。这一情况亦适用于孢子体。它具有发达的棒状体及众多的微线体, 可能与孢子体需侵入媒介的唾液腺细胞, 尔后再侵入鸟类宿主中胚层细胞有关。因而, 任何能作用棒状体及微线体, 并导致其超微结构及功能变化的化学药物, 都将影响, 甚至阻断孢子体(亦包括裂殖子)对宿主细胞的入侵。这就为疟疾的化学药物预防提供重要理论依据。

参 考 文 献

- 徐麟鹤 潘家栋 1982 伯氏疟原虫红内期的超微结构。上海第一医学院学报 9 (3):167
- Aikawa, M. and T. M. Seed 1980 Morphology of Plasmodia, in "Malaria" (Ed Kreier JP), 1:285-340, Academic Press, NY, London
- Garnham, P. C. C., Bird R. G. and J. R. Baker 1960 Electron microscope studies of motile stages of malaria parasites 1. The fine structure of the sporozoites of *Haemamoeba (Plasmodium) gallinacea*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 54(3):274
- Kilejian, A. 1976 Does a histidine-rich protein from *Plasmodium lophurae* have a function in merozoite penetration? *J. Protozool.* 23:272

STUDIES ON THE FINE STRUCTURE OF *PLASMODIUM GALLINACEUM* SPOROZOITES

Xu Linhe

(Department of Parasitology, Shanghai First Medical College, Shanghai)

Philippe Rossignol

(Department of Tropical Public Health, Harvard University, USA)

Infected salivary glands of *Aedes aegypti* were harvested 18 days after the mosquitoes had been infected with *P. gallinaceum*. Dissected salivary glands were fixed in 1.25% glutaraldehyde for 1 hour and postfixed in 1% OsO_4 for 1 hour. Following complete dehydration the glands were embedded in Spurr's low-viscosity embedding medium. Thin sections were stained with uranyl acetate and lead citrate and examined with a Philips 300 electron microscope.

The sporozoites are elongate and sometimes curved. They measure about 7 μm in length and 0.8 μm in diameter.

The pellicle is composed of an outer membrane, a double inner membrane and

a row of subpellicular microtubules. The outer and inner membranes measure 33 nm in width. The microtubules measure 26 nm in diameter and are readily seen in cross sections.

The rhoptries are extremely long extending from the apical end to the midportion of the sporozoite. A rhoptry measuring 0.39 μm in width was observed. The micronemes are numerous, electron-dense, present not only in the anterior but also in the mid-region.

The nucleus is located in the center. The presence of a double nuclear membrane has not been confirmed.

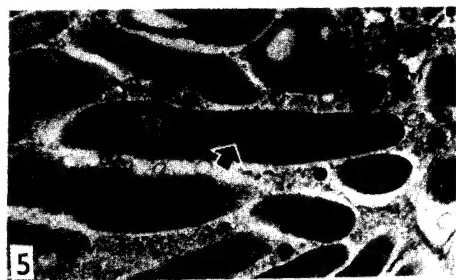
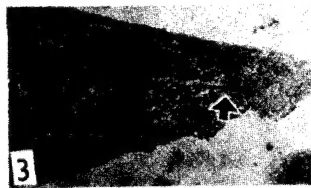
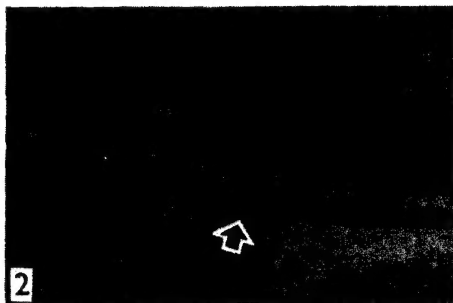
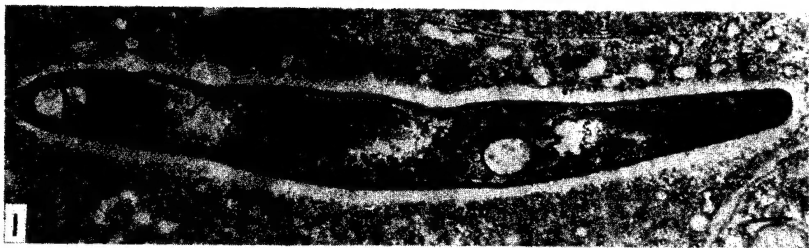
The cytoplasm of the sporozoite is made up of a homogeneous matrix with occasional vacuoles. Inside the vacuoles are found "fenestrated buttons", 0.26—0.36 μm in diameter with clearly defined margins. According to Garnham it is possible they are lipid material. Numerous ribosomes were present in the cytoplasm.

A cytostome structure was observed at the lateral side of the sporozoite. It measures 33 nm in depth and 40 nm in width.

The extremely long rhoptries and numerous micronemes are probably associated with the penetration of the host cell membranes—first of the mosquito's salivary gland and second of the mesodermal cell in the bird's skin. Thus, any chemicals which can cause alteration in morphology and function of rhoptries and micronemes probably can influence even block the penetration of the host cell by the sporozoite.

Key words *Plasmodium gallinaceum* Sporozoite Fine structure Rhoptry Microneme

Xu Linhe et al.: Studies on the Fine Structure of Plasmodium
Gallinaceum Sporozoites



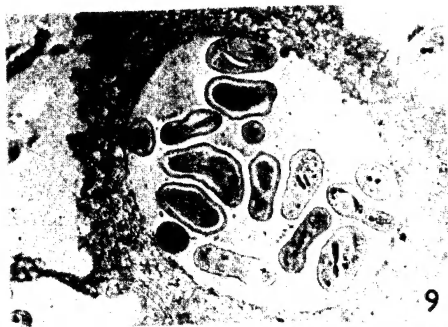
Fine Structure of the Sporozoite of *Plasmodium gallinaceum*

- 图1 鸡疟原虫孢子体 $\times 16500$ 图2 孢子体复合膜的外膜及内膜 (箭头所示) $\times 60500$
图3 孢子体复合膜的膜下微管 (箭头所示, 纵切面) $\times 30250$ 图4 孢子体复合膜的膜下微管
(箭头所示, 横切面) $\times 38500$ 图5 孢子体的棒状体 (粗箭头所示) 和微线体 (细箭头
所示) $\times 14000$

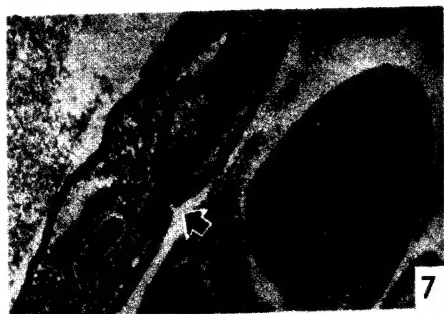
- Fig.1 Sporozoite of *Plasmodium gallinaceum*
Fig.2 Outer and inner pellicular membranes of the sporozoite (arrow)
Fig.3 Longitudinal section of subpellicular microtubules of sporozoite (arrow)
Fig.4 Cross section of subpellicular microtubules of sporozoite (arrow)
Fig.5 Rhoptry (thick arrow) and micronemes (thin arrow)



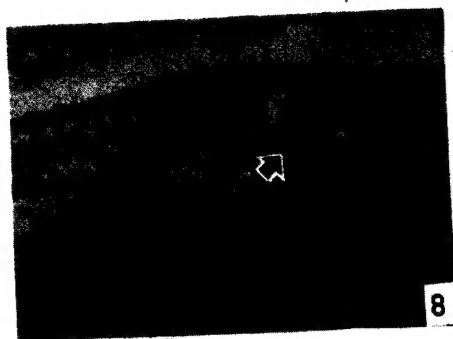
6



9



7



8



10

图6 孢子体的棒状体（粗箭头所示）和微线体（细箭头所示） $\times 14000$

图7 孢子体的胞口（箭头所示） $\times 30250$

图8 “斑点纽扣样”结构（箭头所示） $\times 30250$

图9 在唾液腺角质微管内的孢子体 $\times 11000$

图10 唾液腺腔内的孢子体 $\times 7700$

Fig. 6 Rhoptry (thick arrow) and micronemes (thin arrow)

Fig. 7 Cytostome of sporozoite (arrow)

Fig. 8 "Fenestrated buttons" (arrow)

Fig. 9 Sporozoites in the cuticular duct of the salivary gland

Fig. 10 Sporozoites within the lumen of the salivary gland